

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ЭНДОКРИННОЙ РЕГУЛЯЦИИ  
РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ ГАММА-ОБЛУЧЕННЫХ САМОК КРЫС

А.Д. Наумов

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

## Реферат

Половые стероидные гормоны циркулируют в крови в виде свободных гормонов и связанных форм- комплексов с белками плазмы и форменными элементами крови. Считается, что на уровне клетки-мишени проявляет активность именно свободный гормон. Установлено, что действие ионизирующей радиации в дозе 1,0 Гр (мощность дозы 6,2 сГр/мин) сопровождается статистически значимыми изменениями на 3-и сутки после облучения. У особей, облученных в возрасте 1 мес. (доза 1,00 Гр), на 30-е сутки определен более высокий уровень прогестерона. Наибольшее количество связанного 3Н-эстрадиола обнаруживается в плазме неполовозрелых самок. У половозрелых особей количество общего и связанного гормона уменьшается. Снижение доли связанного прогестерона отмечено на 10-е и 30-е сутки у самок, облученных в 1- мес. и 6 - мес. возрасте соответственно.

**Ключевые слова:** эстрадиол, прогестерон, кровь, содержание и транспорт стероидных гормонов,  $\gamma$ -облучение.

ENDOCRINE REGULATION OF REPRODUCTIVE FUNCTION  
IN GAMMA-IRRADIATED FEMALE RATS

A.D. Navumav

Educational Institution "Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University"

## Abstract

Sex steroid hormones circulate in blood in form of free hormones and bound form complexes with plasma proteins and formed blood elements. It is the free hormone that is believed to be active at the target cell level. Typically, ionizing radiation dose of 1,0 Gy (dose rate 6,2 cGy/min) produces statistically significant changes on the third day after irradiating the species. The species that were irradiated at the age of 1 month, (dosage 1 Gy), were found to have a higher level of progesterone on the 30th day after the irradiation procedure. The largest quantity of bound 3H-estradiol is found in the plasma of immature females. The quantity of general and bound hormone reduces for mature species. Reduced concentration of bound progesterone is found in females on the 10th and the 30th days after they were irradiated at the age of 1 month and 6 months, respectively.

**Key words:** estradiol, progesterone, blood, concentration and transport of steroid hormones,  $\gamma$ -radiation.

## ВВЕДЕНИЕ

Известно, что одной из наиболее чувствительных к действию малых доз ионизирующей радиации с выраженным изменением биологической функции является репродуктивная система [1, 2, 3]. Важная роль в этих процессах принадлежит половым стероидам, действие которых, как и других гормонов, определяется возможностью специфического взаимодействия с рядом транспортных

и рецепторных белков. Половые стероидные гормоны циркулируют в крови в виде свободных гормонов и связанных форм-комплексов с белками плазмы и форменными элементами крови. Считается, что на уровне клетки-мишени проявляет активность именно свободный гормон. Роль же связывания стероидов заключается в изменении доли доступного гормона и влиянии на скорость клиренса крови от секретируемого или получаемого гормона [4, 5, 6].

В научной литературе практически отсутствуют данные о состоянии системы транспорта эстрадиола и прогестерона в крови при облучении организма в малых дозах, а такие знания могут быть полезными в плане выяснения механизмов изменения их физиологического действия в процессе развития патологических процессов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследовательская работа проводилась на базе Государственного научного учреждения «Институт радиобиологии» НАН Беларуси. Эксперименты выполнены на беспородных лабораторных крысах-самках с соблюдением всех правил проведения работ при использовании экспериментальных животных (стандартный уход и содержание в виварии, адаптация к условиям эксперимента, соблюдение асептики и антисептики при операциях).

Изучение содержания и транспорта эстрадиола и прогестерона в крови проводилось после однократного внешнего  $\gamma$ -облучения в дозах 0,25; 0,5 и 1,0 Гр на установке «ИГУР» ( $^{137}\text{Cs}$ ) с мощностью дозы 6,2 сГр/мин в различные сроки после воздействия у неполовозрелых (до 1 мес.), молодых (6-7 мес.) экспериментальных животных.

Определение содержания эстрадиола и прогестерона в крови проводили с помощью стандартных диагностических наборов ХОП ИБОХ НАН Республики Беларусь.

При изучении состояния системы транспорта стероидных гормонов в крови в качестве лиганда использовали [2, 4, 6, 7] -  $^3\text{H}$ -эстрадиол и [1, 2, 6, 7] -  $^3\text{H}$ -прогестерон («Изотоп», Санкт-Петербург).

Аликвоты образцов сыворотки крови, с учетом степени ее разведения, инкубировали в течение фиксированных временных интервалов при 0-4°C в буферной среде (20 мМ Трис-HCl, 10%- глицерин, pH-7,4) с мечеными тритием стероидами в концентрации 0,2 - 20,0 нМ. Инкубация образцов велась по следующей схеме: в пробирки последовательно вносили 1 мл буферного раствора, затем 0,1 мл раствора меченого гормона в буферном растворе, затем 0,1 мл 200-кратного избытка немеченого аналога гормона, в случае проб с подавлением специфического связывания метки, или 0,1 мл буфера в случае проб без подавления. Реакцию запускали последующим внесением 0,6 мл разведенного в буферном растворе образца сыворотки крови.

Несвязанный гормон удаляли методом твердофазной адсорбции на декстран-покрытом угле

(активированный уголь Norit А - 0,5%, декстран Т-70- 0,05%), в соотношении 9:1. Длительность адсорбции составляла 2-3 минуты с последующим осаждением при 2 500-3 000 г в течение 3-5 минут. Эффективность разделения составляла не менее 95% [7].

Супернатант отбирали и переносили в сцинтилляционные виалы, добавляя в каждый по 10 мл сцинтилляционной жидкости ЖС-8 и считывали на  $\beta$ -счетчике Mark-III, США.

Концентрацию белка в пробах определяли по методу Лоури [8].

Результаты обрабатывали статистически с применением  $t$  критерия Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Одним из свидетельств раннего нарушения в нейроэндокринной системе при общем внешнем облучении является изменение содержания гормонов в крови. Из полученных нами данных следует, что внешнее  $\gamma$ -облучение 6-мес. крыс-самок в дозах 0,25; 0,50 и 1,00 Гр не сопровождается существенным изменением содержания эстрадиола в крови на 10- и 30-е сутки после указанного воздействия. Статистически значимые различия обнаружены лишь на 3-и сутки после облучения и выражаются в увеличении (на 30%) уровня гормона в крови (Табл. 1). Облучение неполовозрелых самок в дозах 0,50 и 1,00 Гр не сопровождалось статистически достоверным изменением уровня эстрадиола на 3-, 10- и 30-е сутки после внешнего  $\gamma$ -воздействия.

Уровень содержания прогестерона после общего  $\gamma$ -облучения в дозе 1,00 Гр 1- и 6-мес. самок на 3-и сутки после воздействия был снижен (Табл. 2). У особей, облученных в возрасте 1 мес. (доза 1,00 Гр), на 30-е сутки фиксировался более высокий уровень стероида по сравнению с контрольными животными; у половозрелых особей в это время уровень гормонов находился в пределах нормы. На 10-е сутки значительных изменений в содержании прогестерона в крови нами не отмечалось.

Изучение системы транспорта эстрадиола и прогестерона производилось *in vivo*, для чего самкам intactных и гамма-облученных крыс внутрибрюшинно вводили по 10-20 мкг/кг массы  $^3\text{H}$ -стероида.

В ходе исследований было установлено, что количество стероидов в крови после инъекции в течение первого часа быстро увеличивается и в дальнейшем (2-3 часа) остается на высоком

**Таблица 1.** Концентрация эстрадиола в сыворотке крови 1 и 6 мес. крыс-самок при внешнем остром гамма-облучении в дозах 0,25; 0,50 и 1,00 Гр (нмоль/л)

Сроки после облучения (сутки)	Доза облучения (Гр)	n	Возраст животных (мес.)	
			1	6
Контроль		9	0,19±0,03	0,41±0,08
3	0,25	5	0,21±0,03	0,40±0,07
	0,50	6	0,23±0,04	0,46±0,09
	1,00	8	0,27±0,05	0,62±0,10*
10	0,25	5	0,22±0,03	0,37±0,07
	0,50	6	0,20±0,04	0,47±0,08
	1,00	8	0,22±0,04	0,35±0,07
30	0,25	5	0,24±0,03	0,39±0,08
	0,50	6	0,25±0,04	0,42±0,09
	1,00	8	0,21±0,04	0,47±0,09

\* - различия достоверны по отношению к контролю (P &lt; 0,05).

**Таблица 2.** Концентрация прогестерона в сыворотке крови 1 и 6 мес. крыс-самок при внешнем остром гамма-облучении в дозах 0,25; 0,50 и 1,00 Гр (нмоль/л)

Сроки после облучения (сутки)	Доза облучения (Гр)	n	Возраст животных (мес.)	
			1	6
Контроль		9	1,34±0,23	2,31±0,28
3	0,25	5	1,26±0,26	2,12±0,32
	0,50	6	0,97±0,18	1,61±0,28
	1,00	8	0,62±0,23*	1,40±0,26*
10	0,25	5	1,40±0,28	2,26±0,35
	0,50	6	1,19±0,21	2,08±0,32
	1,00	8	0,22±0,04	1,80±0,29
30	0,25	5	1,68±0,23	2,43±0,32
	0,50	6	1,68±0,23	2,63±0,35
	1,00	8	1,98±0,26*	2,52±0,29

\* - различия достоверны по отношению к контролю (P &lt; 0,05).

уровне. Следует отметить, что максимальное связывание меченных тритием стероидов с белками плазмы наблюдается через 1,5-2 часа после введения гормона, что послужило основанием для определения связанного эстрадиола и прогестерона в плазме крови в этот временной период. Разделение связанной и свободной формы гормонов проводили суспензией активированного угля.

Особенности взаимодействия <sup>3</sup>H-стероидов с транспортными белками плазмы крови самок крыс представлены в таблицах 3 и 4.

Как следует из полученных данных, наибольшее количество связанного <sup>3</sup>H-эстрадиола обнаруживается в плазме неполовозрелых самок, у них же определяется и максимальное содержание меченого стероида в крови. У половозрелых особей количество общего и связанного гормона уменьшается (P<0,05), вероятно, за счет пониженного метаболизма и клиренса гормонов. При дозе 1,00 Гр наблюдается небольшое увеличение доли свободного стероида на 10-е сутки, более ярко выраженное у неполовозрелых животных.

**Таблица 3.** Распределение  $^3\text{H}$ -эстрадиола в плазме крови 1 и 6 мес. крыс-самок при внешнем остром гамма-облучении в дозах 0,50 и 1,00 Гр ( $M \pm m$ )

Сроки после облучения (сутки)	Доза облучения (Гр)	n	Возраст животных (мес.)			
			1		6	
			содержание эстрадиола, фмоль/мг белка			
			общее	связанное	общее	связанное
Контроль		6	9,05±0,90	8,00±0,45	6,50±0,45	5,90±0,65
10	0,50	5	7,80±0,65	7,50±0,60	6,25±0,50	5,35±0,50
	1,00	6	8,20±0,80	5,25±0,70*	7,70±0,50	4,35±0,50*
30	0,50	5	7,85±0,55	6,85±0,45	7,05±0,65	5,85±0,50
	1,00	5	7,55±0,65*	7,15±0,60	6,80±0,40	5,05±0,35

\* - различия достоверны по отношению к контролю ( $P < 0,05$ ).

**Таблица 4.** Распределение  $^3\text{H}$ -прогестерона в плазме крови 1 и 6 мес. крыс-самок при внешнем остром гамма-облучении в дозах 0,50 и 1,00 Гр ( $M \pm m$ )

Сроки после облучения (сутки)	Доза облучения (Гр)	n	Возраст животных (мес.)			
			1		6	
			содержание прогестерона, фмоль/мг белка			
			общее	связанное	общее	связанное
Контроль		6	19,00±1,60	17,80±1,90	16,50±1,60	15,40±1,30
10	0,50	5	18,00±0,65	17,00±1,70	16,20±1,50	15,30±1,50
	1,00	6	16,30±1,80	12,50±1,60*	15,80±1,60	13,50±1,40
30	0,50	5	17,50±1,50	16,40±1,40	17,00±1,60	15,80±1,70
	1,00	5	16,50±1,70	15,00±1,50	16,30±1,70	12,40±1,4*

\* - различия достоверны по отношению к контролю ( $P < 0,05$ ).

Облучение самок-крыс в дозе 0,50 Гр не сопровождалось существенными изменениями в количестве связанного с белками и свободного эстрадиола. В этом случае не характерны были изменения и в системе транспорта прогестерона. Имеющееся увеличение доли свободного прогестерона фиксировалось лишь на 30-е сутки у особей, облученных в 6-мес. возрасте.

У крыс, облученных в 1-мес. возрасте, увеличение доли свободного гормона было выражено значительно у части особей на 10-е сутки после  $\gamma$ -воздействия.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Т.о., в ходе исследований установлено, что внешнее гамма-облучение может сопровождаться не только изменением содержания эстрадиола и прогестерона в крови, но и изменениями на уровне взаимодействия стероидных гормонов с транспортными белками крови, выражающимися в увеличении доли их свободных фракций в крови. Существует вероятность того, что у женского населения, проживающего в условиях хронического лучевого воздействия, наибольшему

изменению подвержены гормон-транспортные системы сыворотки крови, участвующие в регуляции репродуктивной функции.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Дедов, В.И. Радиационная эндокринология / В.И. Дедов, И.И. Дедов, В.Ф. Степаненко; отв. ред. А.М. Лягинская. – Москва: Медицина, 1993. – 208 с.
2. Попов, Е.Г. Радиационно-индуцированные изменения характеристик андроген-специфичных белков и их вклад в нарушения гормональной регуляции / Е.Г. Попов, А.Д. Наумов // Современные проблемы биохимии: учеб. пособие для студентов и магистрантов высш. учеб. заведений по биол. спец. / С.Б. Бокуть [и др.]; под ред. А.П. Солодкова, А.А. Чиркина. – Витебск: УО «ВГУ им. П.М. Машерова», 2010. – Гл. 10. – С. 231–254.
3. Filchenkov, G.N. The low dose gamma ionising radiation impact upon cooperativity of androgen-specific proteins / G.N. Filchenkov, E.H. Popoff, A.D. Naumov // Journal of Environmental Radioactivity. – 2014. – Vol. 127. – P. 182–190.
4. Розен, В.Б. Основы эндокринологии / В.Б. Розен. – Москва: Высш. шк., 1984. – 336с.
5. Сергеев, П.В. Рецепторы физиологически активных веществ / П.В. Сергеев, Н.Л. Шимановский; отв. ред. П.В. Сергеев. – Москва: Медицина, 1987. – 400 с.
6. Яговдик, И.Н. Половые стероидные гормоны, как маркеры функционального состояния репродуктивной системы в условиях инкорпорации  $^{137}\text{Cs}$  / И.Н. Яговдик, В.Б. Белуга // 10-й съезд Белорусского общества физиологов: тез. докл., Минск, 3-4 сентября 2001 г. – Минск: Бизнесофсет. – 2001. – С. 51–52.
7. Наумов, А.Д. Облучение малыми дозами и влияние гипофункции щитовидной железы, вызванной йодом-131, на механизм действия женских половых гормонов в органах-мишенях: эксперим.- клинич. исслед.: автореф. дис. на соиск. учен. степ. д-ра биол. наук: 03.00.01 / А.Д. Наумов; Нац. АН Беларуси, Ин-т радиобиологии. – Минск, 1999. – 40 с.
8. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr, R.J. Randall // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, N1. – P. 265–275.